

신부전 요인에 의해 유발된 닭 신장변화의 병리학적 관찰

I. 병리조직학적 및 전자현미경적 관찰

강경일 · 모인필* · 권용국* · 강민수* · 한태욱 · 한정희

강원대학교 수의학과
국립수의과학검역원*
(1999년 11월 4일 접수)

Pathological evaluation of renal changes induced by multiple nephropathogenic factors in SPF chickens

I. Histopathological and electron microscopical observation

Kyung-il Kang, In-pil Mo*, Yong-kuk Kwon*, Min-su Kang*, Tae-wook Hahn, Jeong-hee Han

*Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University
National Veterinary Research and Quarantine**

(Received Nov 4, 1999)

Abstract : Renal failure is one of the main causes of economic impacts in the poultry industry and complex syndrome with different severity of clinical signs caused by multiple nephropathogenic factors such as infectious bronchitis viral infection and excess salt and calcium in diet. To evaluate the correlation between severity of renal failure and the causative nephropathogenic factors, one-day-old specific pathogen free chicks were treated with either single causative factor or multiple causative factors described as above.

Each group was designed as control for non-treated control, IB for infectious bronchitis virus (IB virus) infection, IBHNa for IB virus infection with high diet salt, IBHCa for IB virus infection with high diet calcium, IBHNC for IB virus infection with high diet salt and calcium, HNa for high diet salt, HCa for high diet calcium and HNC for high diet salt and calcium. Chickens were inoculated with IB virus at 1-day-old and remained on their respective diets until 21 day of age.

The high dietary salt feeding groups such as IBHNa, IBHNC, HNa, HNC increased water intake, watery diarrhea, general subcutaneous edema and the high dietary calcium feeding groups such as IBHCa and IBHNC showed severe visceral gout. Two more than treated groups caused high mortality in comparison with the single treated groups. IB virus exposure significantly increased urate deposition and lymphocytic interstitial nephritis. Especially urate deposition

dramatically increased when excess diet calcium was combined together. In excess diet salt treated groups enlarged edematous kidneys were observed and hypertrophy of glomeruli were showed.

These results suggest that IB virus enhanced the incidence and severity on chicken renal failure clearly related to the quantity of salt and calcium.

Key words : infectious bronchitis, calcium, salt, chicken kidney.

서 론

닭의 신부전은 폐사와 생산성 감소에 심각한 영향을 미치며 많은 전염성 질병 및 중독증 그리고 환경적 요인들과 관련 있으나 각 요인에 의해 유발된 증상이 서로 유사하다는 특징을 가지고 있다^{1,2}. 닭 질병과 관련된 일반적인 원인으로는 최소 35종 이상의 영양성분과 수십종의 경제적으로 중요한 영향을 미칠 수 있는 전염성 질병 등이 있다. 그러나 때로 특정 영양성분과 전염성 질병이 상호작용하여 질병의 상승작용을 하거나 반대로 억제되는 복합적인 문제를 초래하기도 한다³.

닭 신장질병과 연관된 대표적인 전염성 질병으로는 닭 전염성 기관지염 바이러스(Infectious bronchitis virus, IB virus)에 의한 닭 전염성 기관지염으로 호흡기와 생식기 그리고 어린 일령에선 신장에 감염되어 높은 폐사율을 동반한다^{4,5}. IB virus는 종류에 따라 다양한 조직친화성을 가지며 임상적인 증상 또한 연령, 품종, 영양 및 환경에 따라 다양하게 나타나고 다른 전염성 원인과 서로 복합감염을 일으키기도 한다⁶.

양계산업에서 필수적인 많은 영양성분들이 최적의 성장과 생산성 향상을 위해 적절한 함량과 균형으로 공급되어야만 하고 적절한 함량의 기준 또한 설정되어 있다⁷. 그러나 종종 일부 영양성분의 경우 결핍수준으로 급여되기도 할 뿐만 아니라 오히려 NRC(National Research Council) 기준치 이상이 과잉공급 되기도 한다³. 이러한 영양성분의 부적합한 배합성분의 대표적인 예로서는 소금이나 칼슘 등을 들 수 있으며 그 결과 심각한 신부전과 높은 폐사율을 초래할 수 있다.

동물의 성장을 위해 사료내의 소금의 첨가는 절대적으로 필요한 사항이며, Na⁺와 Cl⁻ 모두 동물의 생리적인

구조와 기능을 유지하는데 반드시 요구되는 필수 영양성분들이다⁸. 그러나 과량의 함량은 오히려 병적인 현상을 초래하며 특히 닭에 있어서는 신장이 가장 흔히 손상받는 장기중의 하나이다^{9,10}. 닭 신장의 주된 증상으로는 음수량의 증가와 더불어 설사를 일으키며 결국 내장성 통풍과 연관된 폐사를 일으키는 것으로 보고되어 있다¹⁰⁻¹³. 또한 닭 사료내의 Ca 역시 성장과 골격형성 및 유지, 산란계에서는 또한 난각의 형성에 필수적인 영양성분이다. 하지만 과량의 급여는 닭 신장에 있어 신부전과 내장성 통풍을 초래하며 성계의 경우 과도한 Ca의 급여는 높은 빈도의 요결석증을 유발하는 것으로 알려져 있다^{14,15}.

닭 신장질병과 연관된 각각의 원인에 대해서는 비교적 잘 알려져 있는 반면, 일부 IB virus와 Ca이 연관된 복합 신부전에 대한 보고들이 일부 있을 뿐¹⁵⁻¹⁷, 직접적인 특정 영양성분과 전염성 질병과의 상호작용에 의해 발생할 수 있는 심각한 신부전 문제에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 닭 신부전과 연관된 특정 영양성분과 전염성 질병과의 상호관계를 비교하고자 1일령 SPF 병아리에서 IB virus 감염 및 영양성분중 과투여된 Ca과 소금의 단독작용 및 복합작용에 의해 유발된 신장의 병리학적 변화를 관찰하여 가금 신장질병의 기초자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물, 바이러스 및 사료 : 수의과학검역원으로부터 1일령 SPF 병아리와 IB virus의 국내분리주인 KM 91을 분양받아 실험에 사용하였으며 SPF 병아리는 부화 직후 각 처치군별로 전 시험기간동안 무균사육장치에서 사육하였다. 실험사료는 일반 산란용 어린 병아리사료,

식염을 첨가하여 NaCl 성분을 10%로 조절한 사료, 석회석을 혼합하여 Ca 성분을 3.5%로 조절한 사료, 석회석과 석회석을 배합한 사료를 축협에서 주문 구입하여 1일령부터 급여하였다.

실험설계 : 1일령 SPF 병아리 331수중 8수를 실험진대조군으로서 조직시료를 채취한 후 대조군(n = 48), IB(n = 38), IBHNa(n = 39), IBHCa(n = 39), IBHNC(n = 39), HNa(n = 40), HCa(n = 40) 그리고 HNC(n = 40) 처치군 등 8군으로 설정하였다(Table 1). IB, IBHNa, IBHCa, IBHNC 처치군은 IB virus KM91을 수당 0.03ml(104.6EID50)을 점안 접종하였으며 각 처치군은 사료와 물을 자유로이 섭취하도록 하였고 21일령까지 사육하였다. 호흡상태, 설사유무, 활동상태 등의 임상증상과 폐사를 기록하였고 3, 5, 7, 9, 14, 21일령에 대조군은 8수, 처치군들은 5수를 부검하여 시료를 채취하였다.

Table 1. Summary of experimental design

Group	Treatment	No. of chickens
Control	no treatment	48
IB	IB virus ¹	38
IBHNa	IB virus+high diet salt ²	39
IBHCa	IB virus+high diet calcium ³	39
IBHNC	IB virus+high diet salt+high diet calcium	39
HNa	high diet salt	40
HCa	High diet calcium	40
HNC	high diet salt+high diet calcium	40

¹ The chickens of IB, IBHNa, IBHCa and IBHNC groups were inoculated with dose of 10^{4.6}EID₅₀/30 μ l of KM91, which was Korean IB isolates, per chicken using eye drop method at 1-day-old.

² Commercial chicken feed with 10% NaCl using cooking salt.

³ Commercial chicken feed with 3.5% Calcium using limestone.

병리조직학적 관찰 :

1) 육안 및 병리조직학적 관찰 : 시료채취 일령에 따라 부검하여 육안검사를 실시하였고 신장은 상엽을 적출하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였다. 고정된 신장은 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매한 후 4 μ m 두께로 절편하여 hematoxylin & eosin 염색과 PAS 염색을 하여 광학현미경으로 신사구체, 세뇨관, 간질소견을 병변정도에 따라 1에서 5로 나누어 관찰하였으며

calcium mineralization의 확인을 위해 von Kossa 염색을 실시하였다.

2) 전자현미경적 관찰 : 신장 증엽조직을 1mm³ 정도 크기로 세절한 후 0.1M phosphate buffer(PB, pH 7.4)에 녹인 1% paraformaldehyde-1% glutaraldehyde용액에 3시간동안 전고정하였고 0.1M PB로 15분간 3회 수세한 뒤 1% osmium tetroxide에 90분간 후고정하였다. 0.1M PB로 5분간 3회 수세하여 일반적인 방법에 따라 ethyl alcohol 탈수과정을 거쳐 epon mixture에 포매하였다. 포매조직은 ultramicrotome(Reichert-Jung, USA)을 사용하여 1 μ m로 박절하여 1% toluidine blue로 염색하였고, 광학현미경으로 관찰하여 초박절편 부위를 선정하였다. 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(Hitachi H-7100FA, Japan)으로 관찰하였다.

통계처리 : 일령별 병리조직학적 병변도에 대한 각 처치군간의 통계적 유의성은 Sigma Stat Ver. 2.0(Jandel scientific software, USA)을 이용하여 Dunn's test에 의해 검정하였으며, p<0.05일 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

임상증상 및 폐사율 : 대조군을 제외한 각 처치군에서의 일반적인 임상증상은 침울, 운동실조 등의 증상이 나타난 후 폐사하였다. IB virus를 접종한 처치군을 포함한 모든 처치군에서 특별한 호흡기 증세는 관찰되지 않았다. HNa, IBHNC, HNa, HNC 등 고식염 처치군의 경우 음수량의 증가, 수양성 설사, 전신부종이 관찰되었으나 다른 처치군에서는 관찰되지 않았다. IBHCa, IBHNC 처치군에서는 지관절 부위의 요산침착으로 인한 관절종대 및 결절소에 따른 운동장애를 볼 수 있었다.

폐사는 대부분 5~10일령에 다발하였다. 2가지 요인 이상이 처리된 IBHNa(43.6%), IBHCa(64.1%), IBHNC(74.4%), HNC(50.0%) 처치군에서는 1가지 요인이 처리된 처치군에 비해 상대적으로 높은 폐사율을 나타내었다(Table 2).

육안소견 : 부검시 관찰된 육안소견은 대부분 신장에 국한되었으며 IB virus를 접종한 처치군에서도 호흡기 병변은 관찰되지 않았다. 대조군을 제외한 처치군의 신장은 정도의 차이는 있으나 퇴색(Fig 1) 또는 충혈되어 심한 종대와 요산이 침착되어 있었고(Fig 2), 때때로 요산저류에 의한 요관의 확장을 관찰할 수 있었다.

Table 2. Comparison of daily mortality at each group

Group	No. of 1-day-old chickens	Days															Mortality (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	21	
Control	56				1 ^A												1/56 ^B (1.8)
IB	38					1	2	1	1					1	1		7/38(18.4)
IBHNa	39			2		2	2	4	1		2		2	1	1		17/39(43.6)
IBHCa	39					7	4	5	3	4	1				1		25/39(64.1)
IBHNC	39					3	12	7	5	1	1						29/39(74.4)
HNa	40		1			4	1	3		1		1					11/40(27.5)
HCa	40					1											1/40(2.5)
HNC	40				3	1	6	3	5	1	1						20/40(50.0)

A. Number of chickens died.

B. Number of total chickens died/Total number of chickens tested.

요산침착은 IB, IBHNa, IBHCa, IBHNC 등 IB virus접종 처치군에서만 발생되었으며(Fig 3) 특히 IB와 IBHCa 처치군에서는 IBHNa와 IBHNC 처치군보다 더 심한 요산 침착이 확인되었다. 요산침착이 심한 경우에는 요관내에도 요산이 저류되어 있었고(Fig 4), IBHNa, IBHNC, HNa, HNC 처치군에서는 수종성으로 종대된 신장을 관찰할 수 있었다. HCa 처치군에서는 14일령까지 특별한 육안적 병변은 없었으나 21일령에서 신장의 한엽 또는 두세엽이 유백색으로 관찰되었다. 대조군에서는 전일령에 걸쳐 특별한 육안소견을 관찰할 수 없었다(Table 3).

병리조직학적 소견 : 대조군을 제외한 모든 처치군에서 나타난 신장의 병리조직학적 소견은 사구체, 세뇨관, 간질에서 특징적으로 관찰되었다.

IBHNa, IBHNC, HNa, HNC 등 고식염처치군은 3일령 이후에서 사구체 기저막의 비후를 특징으로 하는 사구체의 종대를 보였다(Fig 5). 사구체의 종대는 renal capsule을 구성하는 세포인 mesangial cell과 podocyte의 증식과 보우만주머니의 비대에 기인하였으며 사구체 모세혈관은 단백질 성분의 유출로 인해 균질한 호산성 물질이 차 있었으며 때때로 Bowman's space에서도 관찰되었다.

특히 사구체 기저막의 비후는 3일령 이후부터 고식염 처치군 중에서 뚜렷이 관찰할 수 있었으며 HNC 처치군에서 가장 심하였고 일령별로 볼 때는 IBHNa 처치군의 9일령에서 4.0으로 가장 병변도가 높았다. 비고식염처치군에서는 상대적으로 HCa 처치군이 5일령, 14일령에서

Table 3. Gross findings with severity in the kidney of chickens sampled from each group

Group	Gross Lesion*			
	swelling	congestion	edema	urate deposition
Control	1.00	1.00	1.00	1.00
IB	2.83	1.17	1.00	2.50
IBHNa	3.00	1.40	1.80	1.60
IBHCa	3.30	1.80	1.00	2.60
IBHNC	2.50	2.75	2.25	2.00
HNa	2.20	1.40	2.00	1.00
HCa	2.00	1.17	1.00	1.00
HNC	2.60	1.80	1.60	1.00

*. Data are expressed as mean number of pathological changes.

The effect of pathological changes were expressed as follows :

1 : nonvisible change, 2 : slight change, 3 : mild change, 4 : moderate change, and 5 : severe change.

비교적 심한 기저막의 비후를 보였으나 전반적으로 고식염 처치군에 비하여 병변도가 낮았다(Table 4). H&E 염색 상에서 사구체의 종대를 보였던 처치군(IBHNa, IBHCa, IBHNC, HCa)의 신장조직을 PAS 염색을 실시하여 확인한 결과 사구체 기저막의 비후를 확인할 수 있었다(Fig 6).

세뇨관 병변은 주로 IB, IBHNa, IBHCa, IBHNC 등 IB virus의 접종과 연관된 처치군에서 일령이 증가함에 따

Table 4. Comparison of the hypertrophic severity of glomerular basement membrane in the kidney using lesion scoring system among groups*

Days	Control	IB	IBHNa	IBHCa	IBHNC	HNa	HCa	HNC
3	1.3±0.7 ^{ab} ®	1.0±0.0 ^b	2.5±0.5 ^a	1.4±0.9 ^{ab}	1.9±0.5 ^{ab}	2.1±1.0 ^{ab}	1.8±0.8 ^{ab}	2.2±0.9 ^{ab}
5	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	2.3±1.1 ^{ab}	1.5±0.7 ^b	2.6±0.9 ^{ab}	2.9±1.1 ^{ab}	2.8±0.8 ^{ab}	3.7±1.0 ^a
7	1.0±0.0 ^c	1.2±0.4 ^{bc}	2.8±0.6 ^{ab}	1.8±1.0 ^{abc}	2.8±1.0 ^{abc}	2.8±0.5 ^{ab}	1.3±0.7 ^{abc}	3.2±1.0 ^a
9	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	4.0±0.8 ^a	1.0±0.0 ^b	2.5 ^b ^{ab}	2.4±1.1 ^{ab}	1.7±0.7 ^{ab}	2.8±1.1 ^{ab}
14	1.0±0.0 ^b	1.2±0.4 ^{ab}	3.0±1.4 ^a	2.3±0.6 ^{ab}	NA**	2.7±0.7 ^a	2.1±0.5 ^{ab}	3.0±0.8 ^a
21	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	NA	NA	NA	2.4±0.8 ^a	1.9±0.7 ^{ab}	NA

* Data are expressed as mean±standard deviation.

** NA = not applicable because the tested chickens were died before sampling date.

® Mean values in the row not followed by the same superscript are significantly different (p < 0.05).

The effect of histopathological changes were expressed as follows:

1: nonvisible change, 2: slight change, 3: mild change, 4: moderate change, and 5: severe change.

라 심한 병변을 보였다. 세뇨관의 심한 확장으로 원주형의 상피세포가 편평해져 있었고, 내강에는 탈락된 상피세포, 요원주 및 위호산구의 침윤이 관찰되었다. 또한 세뇨관 상피세포의 핵은 농축되어 있었고 세포질은 호산성으로 과사소견을 나타내었으며 피질부 세뇨관 및 수질부 세뇨관에서 모두 관찰되었다(Fig 7, 8).

IB 단독 처치군은 일령이 증가함에 따라 상피세포의 과사정도가 증가하여 14일령에서 가장 심하였으나 21일령에서는 재생소견과 함께 과사정도가 감소하여 대조군과 별다른 차이를 보이지 않았다. IBHCa 처치군에서는 5, 7일령에서 가장 심한 과사를 보인 후 일령이 증가함에 따라 감소하는 양상을 나타내었다.

IB virus와 연관이 없는 HNa, HCa 처치군은 IB virus 처

치군에 비하여 세뇨관의 병변은 심하지는 않았으나 일령의 변화에 따라 약간의 차이를 보였다. HNa 처치군은 5일령에서만 세뇨관의 병변이 수질부와 피질부 모두에서 관찰되었던 반면 HCa 처치군은 피질부보다 수질부에서 심하였다. 수질부에서의 병변은 IB virus 처치군과 비슷한 정도로 심하였으며 일령의 증가에 따라 병변정도가 심하였다(Table 5, 6).

IB, IBHNa, IBHCa, IBHNC 등 IB virus를 접종한 처치군에서 5일령 이후부터 림프구의 침윤을 특징으로 하는 전형적인 림프구성 간질성 신장염 소견을 보였다(Fig 9). 림프구의 침윤은 피질부와 수질부의 간질에서 관찰되었으며 일령이 증가함에 따라 림프구의 침윤은 심하였다. 그러나 IBHNC 처치군은 전일령에 걸쳐서 IB 처치군은

Table 5. Comparison of acute cortical tubular necrosis in the kidney using lesion scoring system among groups*

Days	Control	IB	IBHNa	IBHCa	IBHNC	HNa	HCa	HNC
3	1.0±0.0 ^b ®	1.6±0.9 ^{ab}	2.5±0.5 ^a	2.5±0.5 ^a	2.5±0.7 ^a	1.6±0.9 ^{ab}	2.0±0.7 ^{ab}	1.9±0.9 ^{ab}
5	1.0±0.0 ^b	2.0±0.8 ^{ab}	2.0±0.6 ^{ab}	4.0±1.2 ^a	1.9±0.8 ^{ab}	2.0±1.0 ^{ab}	2.1±0.7 ^{ab}	2.3±1.1 ^{ab}
7	1.0±0.0 ^b	2.2±1.2 ^{ab}	2.3±0.8 ^{ab}	3.1±1.3 ^a	2.3±0.6 ^{ab}	1.2±0.4 ^{ab}	1.4±0.5 ^{ab}	1.2±0.4 ^{ab}
9	1.0±0.0	1.8±1.1	1.9±1.0	3.7±0.8	4.0	1.0±0.0	1.4±0.9	1.0±0.0
14	1.0±0.0	2.4±1.3	2.0±0.8	2.2±0.3	NA**	1.0±0.0	1.4±0.9	1.0±0.0
21	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	NA	NA	NA	1.1±0.3 ^b	2.7±0.8 ^a	NA

® Mean values in the row not followed by the same superscript are significantly different (p < 0.05).

* Data are expressed as mean±standard deviation.

** NA = not applicable because the tested chickens were died before sampling date.

Table 6. Comparison of acute medullary tubular necrosis in the kidney using lesion scoring system among groups*

Days	Control	IB	IBHNa	IBHCa	IBHNC	HNa	HCa	HNC
3	1.0±0.0	1.4±0.9	1.8±1.0	2.6±1.3	2.5±0.5	1.0±0.0	2.8±0.8	1.6±1.3
5	1.0±0.0 ^b	2.2±1.5 ^{ab}	1.9±0.5 ^{ab}	4.3±1.1 ^a	1.6±0.8 ^b	2.1±1.7 ^{ab}	2.8±1.2 ^{ab}	1.5±0.5 ^b
7	1.0±0.0 ^c	2.3±0.8 ^{abc}	1.7±0.5 ^{abc}	3.5±1.3 ^a	2.8±0.5 ^{ab}	1.2±0.4 ^{bc}	1.2±0.4 ^{abc}	1.2±0.4 ^{abc}
9	1.0±0.0	2.1±0.7	2.1±1.0	2.7±2.0	4.0	1.0±0.0	1.6±0.9	1.0±0.0
14	1.0±0.0 ^c	3.6±1.0 ^a	3.4±0.5 ^{ab}	2.3±1.2 ^{abc}	NA**	1.1±0.2 ^{bc}	2.4±1.3 ^{abc}	1.5±0.6 ^{abc}
21	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	NA	NA	NA	1.0±0.0 ^b	3.5±1.7 ^a	NA

@ Mean values in the row not followed by the same superscript are significantly different(p < 0.05).

* Data are expressed as mean±standard deviation.

** NA = not applicable because the tested chickens were died before sampling date.

21일령에서 다른 IB virus 접종처치군에 비하여 피질부에서 림프구의 침윤이 상대적으로 미약하였다. HNa, HCa, HNC 등 IB virus를 접종하지 않은 처치군은 전반적으로 림프구의 침윤이 상대적으로 약하였으나 14일령 이후에는 대부분 처치군에서 피질부에 소수의 림프구 침윤이 발견되었으며, HCa 처치군에서는 21일령에 피질부 및 수질부에서 IB virus 접종군과 비슷한 정도의 림프구 침윤이 관찰되었다. 신장의 피질부 및 수질부에서의 위호산구 침윤은 대조군을 포함하여 전처치군에서 특징적으로 나타나지 않았다. 단, IB virus를 접종한 IB, IBHNa, IBHCa 처치군은 5일령에서 피질부보다는 수질부에서 일시적으로 위호산구의 침윤이 관찰되었다(Fig 10).

피사된 세뇨관 주변의 간질 또는 일부의 확장된 세뇨관에서는 요산침착이나 mineralization이 나타났으며 심한 경우에는 실질조직을 대체하고 있었다. 요산침착이

나 mineralization은 IBHCa 처치군에서 특징적으로 관찰되었다. 요산침착은 5일령에서 가장 심한 정도를 보였고 일령이 증가함에 따라 침착정도가 감소하였다. IBHCa 처치군 이외에 요산 침착을 보인 처치군은 IBHNC 처치군으로서 7일령에 발견할 수 있었지만 이후에는 존재하지 않았다(Table 7, Fig 11).

신장내 mineralization은 Ca 투여와 관계있는 IBHCa, IBHNC, HNC 처치군에서만 관찰할 수 있었으나 대조군을 포함한 그 밖의 처치군에서는 관찰되지 않았다. IBHCa 처치군은 5일령에서 가장 심하였으며 그 후에도 관찰되었으며 HCa 처치군은 14일령 이후부터 병변이 증가하는 양상을 보여 21일령에는 신장 실질조직에서 광범위하게 mineralization이 확인되었으며 심한 섬유화도 동반되어 관찰되었다(Table 8, Fig 12). H&E 염색상에서 호염성의 구형 또는 부정형의 불규칙한 구조물들에 대해 von Kos-

Table 7. Comparison of urate deposition in the kidney using lesion scoring system among groups*

Days	Control	IB	IBHNa	IBHCa	IBHNC	HNa	HCa	HNC
3	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
5	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	3.3±1.8 ^a	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b
7	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	2.0±2.0	1.5±0.7	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
9	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.8±1.6	1.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
14	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	NA**	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
21	1.0±0.0	1.0±0.0	NA	NA	NA	1.0±0.0	1.0±0.0	NA

@ Mean values in the row not followed by the same superscript are significantly different(p < 0.05).

* Data are expressed as mean±standard deviation.

** NA = not applicable because the tested chickens were died before sampling date.

Table 8. Comparison of mineralization in the kidney using lesion scoring system among groups*

Days	Control	IB	IBHNa	IBHCa	IBHNC	HNa	HCa	HNC
3	1.0±0.0	1.3±0.7	1.3±0.5	1.0±0.0	1.5±0.5	1.2±0.4	1.2±0.4	1.0±0.0
5	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	3.2±1.5 ^a	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b
7	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.5±1.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.2±0.4
9	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	2.2±1.5	2.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
14	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	2.3±1.2	NA**	1.1±0.2	1.8±1.3	1.0±0.0
21	1.0±0.0 ^b	1.0±0.0 ^b	NA	NA	NA	1.0±0.0 ^b	3.6±1.7 ^a	NA

@ Mean values in the row not followed by the same superscript are significantly different(p < 0.05).

* Data are expressed as mean±standard deviation.

** NA = not applicable because the tested chickens were died before sampling date.

sa 염색을 실시한 결과 이 구조물이 황갈색조의 양성반응을 얻어 calcium mineralization을 확인할 수 있었다(Fig 13).

전자현미경적 관찰 : IB virus 접종 처치군의 세뇨관 상피세포내에 감염되어 있는 IB virus 입자를 확인할 수 있었다(Fig 14). 사구체 기저막의 비후를 전자현미경적으로 관찰하였을 때 사구체 모세혈관 내피세포와 외피세포 모두 증대되어 있었으며 사구체 모세혈관 기저막

은 IBHNa, IBHNC, HNa, HNC 등 고식염처리군과 IBHCa, HCa 처치군에서 모두 유사한 형태로 불규칙하게 비후되어 있었다(Fig 15-17).

고 찰

본 실험에서 폐사율은 신장에 영향을 줄 수 있는 2가지 이상의 요인들이 혼합된 처치군들에서 높았다. 특히 IB virus 접종과 함께 처리되었던 IBHNa, IBHCa, IBHNC 처치군들은 훨씬 높은 폐사율을 보였으며 고식염과 고칼슘이 함께 처리된 HNC 처치군에서도 이들 요인의 단독처리 때 보다 높은 폐사율을 나타냈다. 이러한 결과는 IB virus와 사료내 특정성분과의 상승작용에 대한 보고^{15, 17}와 같이 IB virus, 식염, 칼슘의 혼합작용에 의하여 폐사에 대한 상승효과를 나타낼 수 있다는 것을 증명하여 주는 것으로 판단된다. 대조군과 고칼슘처리군(HCa)에서의 폐사는 거의 없었으며 이들 처치군의 1수 폐사는 신부전과 관련된 병변을 보이지는 않았다.

IBHNa, IBHNC, HNa, HNC 등 고식염처리군 신장의 병리조직학적 소견은 수종, 국소부위의 응고괴사, 공포변성, 사구체 모세혈관벽의 초산화, 보우만주머니 벽세포의 비대와 증식, 세뇨관내의 호산성 요원주 등이 관찰되어 Mohanty와 West18의 결과와 일치하였다. 그러나 대부분의 처치군에서의 실제 폐사 중에는 Swayne *et al*¹⁹의 연구보고와 같이 원발성 신부전보다는 과도한 수분섭취에 의한 수중에 뒤이은 급성 심부전에 의한 것이라고 생각되어 진다. 병리조직소견에서 특징적인 사구체 기저막의 심한 비후는 음수량의 증가로 인한 전신수종의 결

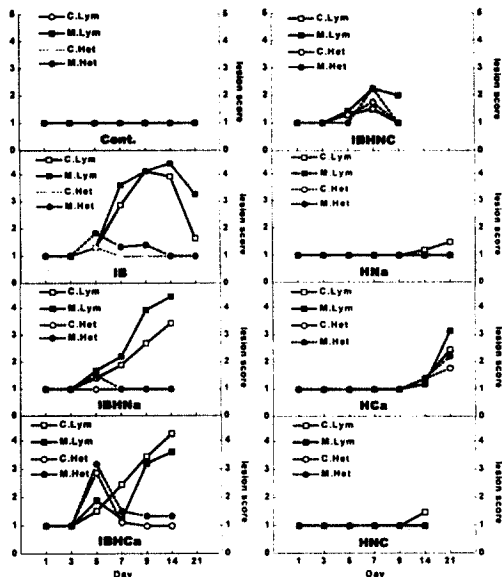


Fig 10. Comparison of means for histopathologic lesion score on inflammatory cell infiltration.

C-Lym: lymphocyte infiltration in cortex tissue, C-Het: heterophil infiltration in cortex tissue, M-Lym: lymphocyte infiltration in medullary portion, M-Het: heterophil infiltration in medullary portion.

과로 신장 순환혈액량의 증가에 의한 것으로 사료된다. 그러나 정상적인 소금을 투여하였던 IBHCa, HCa 처치군의 신부전시에도 사구체의 비대가 관찰된 것은 Na⁺ 외에 다른 원인에 의해서도 닭 신장의 구조적, 기능적 특징으로 인한 보상적 작용에 의해 이루어질 수 있을 것으로 생각된다. 조류의 신장에는 Henle's loop가 없고 피질 외측 부위에 분포하는 파충류형(reptilian type, RT)과 Henle's loop를 가지며 수질주변 부위까지 분포하는 포유류형(mammalian type, MT)의 두가지 형태의 신단위(nephron)가 있다^{1,2,20}. 과량의 염분유입 또는 탈수시 조류의 AVT(arginine vasotoxin)는 RT 사구체에 작용해 혈류유입을 일부 또는 완전차단시켜 RT 사구체의 여과기능을 정지시키며 대신 MT 사구체로의 혈류량을 증가시켜 수분의 재흡수를 촉진시켜서 MT 사구체의 비대와 사구체 여과율 감소, urine flow rate 감소, Na⁺ 배출증가 등의 신기능 변화를 보인다²¹. 이러한 MT 사구체의 비대는 Na⁺ toxicity의 특징적인 소견이며, RT 사구체쪽에서 MT 사구체로의 혈류량 증가에 따른 것^{10,21}임에도 불구하고 본 연구에서 Ca 투여 등의 다른 신부전시에도 고식염사료군과 유사하게 사구체 모세혈관 기저막의 비후를 동반한 사구체의 비대가 관찰되었던 바 이러한 소견은 보상적 기능에 따른 결과인 것 같다.

신장형 IB에 감염된 IB, IBHNa, IBHCa, IBHNC 처치군들에서 관찰된 신장의 종대 및 분필가루 모양의 요산침착, 요관내 요산저류에 의한 요관확장 등의 육안소견과 세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사, 림프구의 침윤을 동반한 심한 간질성 신염, 세뇨관 내강의 확장과 요산침착 등의 전형적인 병리조직학적 소견^{1,22}을 보였다. IBHNC 처치군에서의 초기 일시적인 위호산구의 증가는 급성 괴사반응에 의한 것으로 보여 Latimer *et al*²³의 결과와 유사하였다. 또한 Tsukamoto *et al*²²의 결과와 같이 수질부의 집합관과 요관은 상대적으로 피질부보다 병변의 정도가 심하였으며 요산침착이나 mineralization 등의 소견도 많이 관찰되었다.

IB virus는 세뇨관 상피세포에서 바이러스의 증식을 일으켜 cytolitic action에 의해 신장의 병리학적 변화를 초래하고 성장된 이후에도 지속적으로 신세뇨관 상피세포에서 바이러스를 배출하는 만성 신염을 나타낸다²⁴. 본 실험에서도 IB virus 감염된 닭 신장에서 림프구를 동반한 간질성 신염, 요산침착, mineralization 등으로 보아 만성 신장염 병변이 지속적으로 발견된 것으로 판단된다.

IB 감염시 간질내 염증반응은 면역반응을 동반하였지만 시간이 경과할수록 만성 신염이 나타나는 이유는 지속적인 바이러스의 존재가 면역학적으로 숙주와 경쟁적 상태에서 이루고 있기 때문이다²⁵. 이러한 특성들은 IB virus가 숙주면역체계에 영향받지 않고 주변세포로 증식과 감염할 수 있게 하며²⁴ 감염세포의 용해와 바이러스항원의 노출은 염증세포의 동반과 항체 booster 효과도 초래하리라 사료된다. 지속적인 신장내 IB virus의 감염상태는 다른 신부전 요인에 의해 질병화 되리라 생각된다.

고칼슘사료만을 투여한 HCa 처치군은 무증상 내지는 21일령에 섬유화를 동반한 심한 mineralization을 보인 반면 IB virus와 고칼슘사료를 투여한 IBHCa 처치군은 혈중칼슘과 요산의 증가, 세뇨관 괴사, 심한 요산침착과 mineralization을 유발하였다. 하지만 각 처치군별 혈중칼슘과 요산과의 상관관계는 무관하였고 요산침착이나 mineralization 형성과 혈중 칼슘 또는 요산과의 관계 또한 직접적인 비례관계로 보기는 어려웠기 때문에 혈액 중 특정 성분의 상승만으로 조직병변이 형성되었다고 보이지는 않으나 정상 이상의 칼슘은 이차적 요인에 의해 신부전을 심화시킬 수 있는 잠재적 요인이 될 수 있을 것으로 추정된다.

본 실험에서의 요산침착이나 mineralization 형성은 대부분 괴사된 세뇨관, 간질, 요관 및 수질부에 다발한 것으로 보아 Mallinson *et al*²⁶, Glahn *et al*²⁷, Wideman과 Sannick²⁸이 주장한 요결석 형성양상과 유사할 것으로 보이며 특히 IBHCa 처치군에 있어서는 신장형 IB virus가 존재함으로써 뇨의 pH 상승 및 Ca 배출의 증가와 더불어 신장의 탈락세포들이 Ca-Na-urate로 구성된 요결석 형성 기전의 기시적인 역할을 하리라 사료된다. 이러한 기전이 이루어지면 Wideman *et al*^{29,30}의 주장과 같이 점진적으로 요관이 폐쇄되고 영향받지 않은 신장조직은 외인성 요산의 배출과 다른 노폐물의 처리에 대한 과도한 부하량과 내장형 통풍에 의해 폐사되었을 것으로 추정된다.

IBHNC 처치군에서 5일령 이전의 일령에서의 변화는 그후 일령에 비해 Ca으로 인한 변화가 더 감소하는 것으로 여겨진다. 이는 식염이 세뇨관 병변에 더 많은 영향을 주었을 것이며 어린 일령에서 칼슘으로 인한 IBHCa 처치군 보다는 식염에 의한 IBHNa 처치군과 유사한 병변이 나타났다. 또한 요산침착과 mineralization 형성도 IBHCa 처치군에 비해 적었다. 이는 고식염사료의 영향에 의해 증가한 음수량과 수양성 설사를 통해 이노중상

(diuresis)을 보였던 처치군에서 오히려 혈중 요산의 감소를 보여 신장손상의 지표로 보기 어려웠던 Wideman과 Satnick²⁸의 예와 유사하다고 사료된다.

이상에서 살펴본 바와 같이 IB virus, 칼슘, 염분에 의한 닭의 신부전은 육안적, 병리조직학적 검사에서 특이적인 소견을 보였으며 앞으로 유사한 야외질병 발생시의 감별진단 및 닭 신부전의 기전에 대한 기초자료로 유용하리라 생각된다.

결 론

닭의 여러 신장질환의 원인중 신장형 전염성 기관지염 바이러스(IB virus), 사료내 고칼슘 및 고식염함량의 상호작용에 의해 손상된 SPF닭 신장의 병리학적 비교를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 두가지 이상의 닭 신부전 요인이 혼합될 때 높은 폐사율과 함께 심한 신장병변이 야기되었다. 특히 IB virus

는 식염과 칼슘의 혼합작용에 의해 더욱 심각한 닭 신부전을 유발하였다.

2. 신장형 IB virus 감염시 요산이 심하게 침착되었고, 고식염함유사료 투여시 수중성을 동반한 종대를 보였고 고칼슘함유사료만을 투여할 때는 특징적인 육안적 변화를 관찰할 수 없었다.

3. IB virus 단독원인 보다는 사료의 구성비의 변동이 요산의 형성에 따른 상호 질병발생에 상승역할을 하였고 특히 식이성 칼슘농도의 증가는 심한 요산의 침착과 mineralization으로 심한 신장의 손상을 유발하였다.

4. IB virus와 고식염함유사료 또는 고칼슘함유사료 처치군의 염증반응은 림프구의 침윤을 특징으로 하였으며 급성 괴사를 동반할 때 위호산구의 침윤도 증가하였다.

5. 사구체 모세혈관 기저막의 비후를 특징으로 하는 사구체의 비대는 고식염사료에 의한 특징적인 소견이었으며 또한 다른 신부전 원인에 의해서도 사구체의 기능의 생리적 보상기전으로 유사하게 발생될 수 있었다.

Legends for figures

Fig 1. Note pale and edematous enlargement of the kidney in HNC group at 7 days old.

Fig 2. Note severe congestion, edematous enlargement and urate deposition of the kidney in IBHNC group at 9 days old.

Fig 3. Note severe urate deposition and swollen kidney in IB group at 9 days old.

Fig 4. Note urate deposition and dilated ureter containing urate(large arrow) in IBHNC group at 7 days old.

Fig 5. Note hypertrophy of glomerulus characterized by thickened basement membrane of the capillary loops(arrow) in the HNa group at 5 days old. A few lymphocytes and heterophils were infiltrated around the enlarged glomerulus(H&E, 1200×).

Fig 6. Note thickened glomerular basement membrane(arrow) with reddish purple color in IBHNa group at 9 days old(PAS, 1200×).

Fig 7. Note severe tubular dilation containing urinary casts in IBHNC group at 7 days old(H&E, 300×).

Fig 8. Note lymphocytic and heterophilic infiltration(small arrow) were present in the interstitium and tubular lumen containing cellular debris and necrotic tubules(large arrow) in the IBHNC group at 5 days old. Also moderate fibrosis and mononuclear cellular infiltration were observed in the interstitium(H&E, 600×).

Fig 9. Note severe lymphocytic infiltration(small arrow) in renal cortical and medullary area in IB group at 14 days old(H&E, 300×).

Fig 11. Note urate crystal deposition in necrotic renal cortex in the IBHCa group at 5 days old. Feathery urate crystals surrounded by necrotic inflammatory cells were shown(H&E, 1200×).

Fig 12. Note severe fibrosis(F) in renal cortex and medulla in HCa group at 21 days old. The surrounding tubules were atrophied by fibrosis and distended tubular lumens contained mineralized materials(arrow)(H&E, 600×).

Fig 13. Note deposition of mineral with dark brown color(arrow) in ureter in IBHCa group at 7 days old(von Kossa, 1200×).

Fig 14~17. Electron micrographs of kidney in chicks. Note budding of IB viral particles into the perinuclear space in a tubular epithelial cell in IBHCa at 14 days old chicks(Fig 14, 50000×) and swollen basement membrane of glomerula in IBHNa at 14 days old chicks(Fig 15, 25000×), in IBHCa at 14 days old chicks(Fig 16, 17500×), in HCa at 21 days old chicks(Fig 17, 25000×)

참 고 문 헌

1. Siller WG. Renal pathology of the fowl-a review. *Avian Pathol*, 10:187-262, 1981.
2. Riddle C. Avian Histopathology : *American Association of Avian Pathologists*, Inc. Pennsylvania: 67-74, 1987.
3. Klasing KC. Interactions between nutrition and infectious disease. In : Calnek, BW *et al.* *Diseases of poultry 10th ed.* Ames : Iowa State University Press: 73-80, 1997.
4. Schalk AF, Hawn MC. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J Am Vet Med Assoc*, 78:413-422, 1931.
5. Brown TP, Glisson JR, Rosales G, *et al.* Studies of avian urolithiasis associated with an infectious bronchitis virus. *Avian Dis*, 31:629-636, 1987.
6. Dhinakar Raj G, Jones RC. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. *Avian Pathol*, 26:677-706, 1997.
7. National Research Council, Washington, DC: National Academy of Sciences, 1994.
8. Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In : *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, edited by Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML London : Academic Press: 857-883, 1997.
9. Barlow JS, Slinger SJ, Zimmer GP. The reaction of growing chicks to diets varying in sodium chloride content. *Poultry Sci*, 27:542-552, 1948.
10. Sokkar SM, Hussein BM, Mohammed MA. Renal lesions in baby chicks due to sodium chloride poisoning. *Avian Pathol*, 12:277-285, 1983.
11. Scribner LH. Experimental edema and ascites in poult. *J Am Vet Med Assoc*, 108:27-32, 1946.
12. Paver H, Robertson A, Wilson JE. Observations on the toxicity of salt for young chickens. *J Comp Pathol*, 53: 31-47, 1953.
13. Sander JE, Savage SI, Rowland GN. Sodium Sesquicarbonate Toxicity in Broiler Chickens. *Avian Dis*, 42: 215-218, 1998.
14. Winterfield RW, Hitchner SB. Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *Am J Vet Res*, 23:1273-1279, 1962.
15. Glahn RP, Wideman RF, Jr, Cowen BS. Effect of dietary acidification and alkalization on urolith formation and renal function in single comb white leghorn laying hens. *Poult Sci*, 67:1694-1701, 1988.
16. Wideman RF, Jr, Closser JA, Roush WB, *et al.* Urolithiasis in pullets and laying hens : role of dietary calcium and phosphorus. *Poult Sci*, 64:2300-2307, 1985.
17. Wideman RF, Jr, Cowen BS. Effect of dietary acidification on kidney damage induced in immature chickens by excess calcium and infectious bronchitis virus. *Poult Sci*, 66:626-633, 1987.
18. Mohanty GC, West JL. Pathologic features of experimental sodium chloride poisoning in chicks. *Avian Dis*, 13:762-773, 1969.
19. Swayne DE, Shlosberg A, Davis RB. Salt poisoning in turkey poults. *Avian Dis*, 30:847-852, 1986.
20. Morild I, Bohle A, Christensen JA. Structure of the avian kidney. *Anat Rec*, 212:33-40, 1985.
21. Wideman RF, Jr, Satnick JL, Mitsos WJ, *et al.* Effect of saline adaptation and renal portal sodium infusion on glomerular size distributions and kidney function in domestic fowl. *Poult Sci*, 66:348-356, 1987.
22. Tsukamoto Y, Kotani T, Shiraishi Y, *et al.* Epithelial cell proliferation of collecting ducts and ureters in the regeneration process of interstitial nephritis caused by infectious bronchitis virus. *Avian Pathol*, 25:95-102, 1996.
23. Latimer KS, Tang K, Goodwin MA, *et al.* Leukocyte changes associated with acute inflammation in chickens. *Avian Dis*, 32:760-772, 1988.
24. Chong KT, Apostolov K. The pathogenesis of nephritis in chickens induced by infectious bronchitis virus. *J Comp Pathol*, 92:199-211, 1982.
25. Oshiro LS, Schieble JH, Lennette EH. Electron microscopic studies of coronavirus. *J Gen Virol*, 12:161-168, 1971.
26. Mallinson ET, Rothenbacher H, Wideman RJ, *et al.* Epizootiology, pathology, and microbiology of an outbreak of urolithiasis in chickens. *Avian Dis*, 28:25-43, 1984.

27. Glahn RP, Wideman RF, Jr, Cowen BS. Effect of gray strain infectious bronchitis virus and high dietary calcium on renal function of single comb white leghorn pullets at 6,10, and 18 weeks of age. *Poult Sci*, 67: 1250-1263, 1988.
28. Wideman RF, Satnick JL. Physiological evaluation of diuresis in commercial broiler breeders. *British Poult Sci*, 30:313-326, 1989.
29. Wideman RF, Mallinson ET, Rothenbacher H. Kidney function of pullets and laying hens during outbreaks of urilithiasis. *Poult Sci*, 62:1954-1970, 1983.
30. Wideman RF, Ford BC, Leach RM, *et al.* Liquid Methionine hydroxy analog(free acid) and DL-methionine attenuate calcium-induced kidney damage in domestic fowl. *Poult Sci*, 72:1245-1258, 1993.
-